

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2004 年 2 月 12 日 (12.02.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/013344 A1

(51) 国際特許分類: C12P 19/60

(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/008600

(22) 国際出願日: 2003 年 7 月 7 日 (07.07.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2002-228705 2002 年 8 月 6 日 (06.08.2002) JP

内 Okayama (JP). 津崎 桂二 (TSUSAKI, Keiji) [JP/JP]; 〒700-0907 岡山県岡山市下石井 1 丁目 2 番 3 号 株式会社林原生物化学研究所内 Okayama (JP). 久保田 倫夫 (KUBOTA, Michio) [JP/JP]; 〒700-0907 岡山県岡山市下石井 1 丁目 2 番 3 号 株式会社林原生物化学研究所内 Okayama (JP). 福田 恵温 (FUKUDA, Shigeharu) [JP/JP]; 〒700-0907 岡山県岡山市下石井 1 丁目 2 番 3 号 株式会社林原生物化学研究所内 Okayama (JP). 三宅 俊雄 (MIYAKE, Toshio) [JP/JP]; 〒700-0907 岡山県岡山市下石井 1 丁目 2 番 3 号 株式会社林原生物化学研究所内 Okayama (JP).

(81) 指定国 (国内): KR, US.

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社林原生物化学研究所 (KABUSHIKI KAISHA HAYASHIBARA SEIBUTSU KAGAKU KENKYUJO) [JP/JP]; 〒700-0907 岡山県岡山市下石井 1 丁目 2 番 3 号 Okayama (JP).

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 向井 和久 (MUKAI, Kazuhisa) [JP/JP]; 〒700-0907 岡山県岡山市下石井 1 丁目 2 番 3 号 株式会社林原生物化学研究所

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: PROCESS FOR PRODUCING 2-O- α -D-GLUCOPYRANOSYL-L-ASCORBIC ACID

(54) 発明の名称: 2-O- α -D-グルコピラノシル-L-アスコルビン酸の製造方法

(57) Abstract: A method of reaction for yielding 2-O- α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid. In this method, 5-O- α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid and 6-O- α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid are not generated or are generated in such a small amount that the generation of these cannot be detected. Also provided is a process for producing 2-O- α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid which employs the reaction method. The process for producing 2-O- α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid is characterized by causing an α -isomaltosyl glucoglucide-producing enzyme or a combination of an α -isomaltosyl glucoglucide-producing enzyme and cyclomaltodextrin glucanotransferase (EC 2.4.1.19) to act on a solution containing L-ascorbic acid and α -glucosyl saccharide compound to yield 2-O- α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid and collecting it.

(57) 要約: 本発明の課題は、5-O- α -D-グルコピラノシル-L-アスコルビン酸及び6-O- α -D-グルコピラノシル-L-アスコルビン酸を生成しないか若しくはそれらの生成が検出できないほど少ない2-O- α -D-グルコピラノシル-L-アスコルビン酸反応方法を提供するとともに本反応方法を用いた2-O- α -D-グルコピラノシル-L-アスコルビン酸の製造方法を提供することであり、L-アスコルビン酸と α -グルコシル糖化合物とを含有する溶液に α -イソマルトシルグルコ糖質生成酵素または α -イソマルトシルグルコ糖質生成酵素とシクロマルトデキストリン・グルカノトランスフェラーゼ(EC2.4.1.19)とを作用させ、2-O- α -D-グルコピラノシル-L-アスコルビン酸を生成せしめ、これを採用することを特徴とする2-O- α -D-グルコピラノシル-L-アスコルビン酸の製造方法を提供することで前記課題を解決する。

WO 2004/013344 A1

酵素のアスコルビン酸への糖転移は、アスコルビン酸の2位水酸基のみに反応し、特異的に2-O- α -D-グルコピラノシル-L-アスコルビン酸を生成することが判明した。

5 実験 8

<CGTase との併用試験>

- L-アスコルビン酸を9%、澱粉部分分解物（商品名『バインデックス#100』、松谷化学株式会社製造）を21%及び1mMの塩化カルシウムを含む水溶液をpH5.0に調整し、これに実験2の方法で調製した精製 α -イソマルトシルグルコ糖質生成酵素を澱粉部分分解物1g当たり10単位、CGTase（株式会社林原生物化学研究所製造）を1乃至100単位になるように加えて50℃で24時間反応させた。これら反応液を約100℃で10分間加熱し、酵素を失活させた後、40℃に冷却し、グルコアミラーゼ（生化学工業株式会社製造）を澱粉部分分解物1g当たり40単位加え、40℃で16時間作用させた。これら反応液を実験5に記載のHPLC法に供し、2-O- α -D-グルコピラノシル-L-アスコルビン酸、及び5-O- α -D-グルコピラノシル-L-アスコルビン酸、6-O- α -D-グルコピラノシル-L-アスコルビン酸の生成量を測定し、基質固形物当りの生成量を求めた。併せて、精製 α -イソマルトシルグルコ糖質生成酵素単独及び対照として、CGTase単独で転移反応を行い同様に操作した。それらの結果を表5に示す。